

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

54574

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 12 q, 6/01

Zgłoszono: 11. VI. 1965 (P 109 561)

MKP C 07 c

Pierwszeństwo: 25. VI. 1964 dla zastrz. 1, 10
02. IX. 1964 dla zastrz. 3, 4
11, 12, 13
26. V. 1965 dla zastrz. 2, 5
Wielka Brytania

UKD

103/52

Opublikowano: 25. I. 1968

CZYTELNIA

Urząd Patentowy
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Właściciel patentu: Imperial Chemical Industries Limited, Londyn (Wielka Brytania)

Sposób wytwarzania acylowanych pochodnych czteropeptydów

1

Wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania acylowanych pochodnych czteropeptydów, mających zastosowanie jako środki diagnostyczne i terapeutyczne, o wzorze 1, w którym X oznacza ewentualnie podstawiony rodnik acylowy, a Y oznacza bezpośrednie wiązanie pomiędzy rodnikiem X a sąsiednim atomem azotu lub rodnik aminoacylowy o wzorze 2, w którym R¹, R², R³, R⁴ i R⁵ takie same lub różne, oznaczają atomy wodoru lub ewentualnie podstawione rodniki alkilowe, A¹, A², A³, A⁴ i A⁵ oznaczają atomy wodoru lub A¹ i R¹, A² i R², A³ i R³, A⁴ i R⁴ i/lub A⁵ i R⁵ są połączone i tworzą pierścień heterocykliczny wraz z sąsiednimi atomami azotu i węgla, a n¹, n², n³, n⁴ i n⁵, takie same lub różne, oznaczają liczby 0 lub 1, oraz soli tych związków.

Odpowiednim rodnikiem X jest na przykład rodnik alkilokarbonylowy, na przykład o nie więcej niż 8 atomach węgla, taki jak acetylowy piwaloilowy lub DL-2-etyloheksanoilowy, rodnik arylokarbonylowy na przykład o nie więcej niż 10 atomach węgla, taki jak benzoilowy; podstawiony rodnik arylokarbonylowy, na przykład fenyllokarbonylowy podstawiony jednym lub kilkoma rodnikami acyloaminowymi, taki jak p-(trójfluoroacetyloamino)-benzoilowy, rodnik aralkilokarbonylowy, na przykład fenylalkilokarbonylowy w którym rodnik alkilowy nie zawiera więcej niż 4 atomy węgla, na przykład benzylokarbonylowy; rodnik alkoksycarbonylowy, na przykład

2

o nie więcej niż 6 atomach węgla, taki jak III rząd. butyloksycarbonylowy; rodnik aryloksycarbonylowy; na przykład fenoksycarbonylowy; rodnik aralkoksycarbonylowy; na przykład o nie więcej niż 10 atomach węgla, taki jak benzyloksycarbonylowy; rodnik alkilosulfonylowy lub arylosulfonylowy, ewentualnie podstawiony rodnikiem alkilowym, na przykład benzenosulfonylowy, ewentualnie podstawiony rodnikiem alkilowym o nie więcej niż 3 atomach węgla, taki jak p-toluenosulfonylowy, lub rodnik aralkilosulfonylowy. Poza tym rodnik X oznacza acyl aminokwasu lub pochodnej tego kwasu, w tym także acylowanej pochodnej tego kwasu, na przykład acyl L-alaniny lub jej acylopochodnej, jak N-III rząd. butyloksycarbonylo-L-alanyl lub N-III rząd. butyloksycarbonylo-N-metylo-L-alanyl; acyl β -alaniny lub jej acylopochodnej, jak alkilokarbonylopochodna β -alaniny o nie więcej niż 8 atomach węgla, na przykład acetylo- β -alanyl lub piwaloilo- β -alanyl; alkoksycarbonylo-pochodna β -alaniny o nie więcej niż 8 atomach węgla, na przykład III rząd. butyloksycarbonylo- β -alanyl; aralkoksycarbonylo-pochodna β -alaniny, na przykład benzyloksycarbonylo- β -alanyl; arylokarbonylopochodna β -alaniny, na przykład benzoilo- β -alanyl; acyl kwasu γ -aminomasłowego lub jego acylopochodnej, jak acetylo- γ -aminobutyryl; acyl glicyny lub jej acylopochodnej jak benzoiloglicyl, III rząd. butyloksycarbonyloglicyl lub benzyloksycarbony-

loglicyl; acyl L-lizyny lub jej acylopocho-dnej, na przykład pochodnej L-lizyny zawierającej jeden lub dwa rodniki alkoksykarbonylowe lub aralko-ksykarbonylowe takie, że cały rodnik acylo-L-li-zynowy zawiera nie więcej niż 19 atomów węgla, na przykład N α -III rząd. butyloksykarbonylo-N ϵ -benzyloksykarbonylo-L-lizyl, N α -benzyloksykar-bonylo-N ϵ -III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizyl, N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazylo-2)-L-lizyl, N α -benzyloksykar-bonylo-L-lizyl, N α -benzyloksykarbonylo-L-lizyl czy N ϵ -benzyloksykarbonylo-L-lizyl.

Poza tym rodnik X oznacza acyl L-proliny lub jej acylopocho-dnej, na przykład N-benzyloksykar-bonylo-L-prolil; acyl L-waliny lub jej acylopo-chodnej, na przykład N-benzyloksykarbonylo-L-walil; acyl L-fenylalaniny lub jej acylopocho-dnej, na przykład N-benzyloksykarbonylo-L-fenyl-alanyl; acyl-L-homocysteiny lub jej acylopo-chodnej, na przykład N-III rząd. butyloksykar-bonylo-S benzylo-L-homocysteiny lub S-benzylo-L-homocysteiny, bądź też X oznacza L-piroglu-tamyl lub karbamyl ($H_2N \cdot CO-$). Ponadto rodnik X może oznaczać acyl kwasu L-asparaginowego, L-glutaminowego, L-histydyny, L-metioniny, L-treoniny, L-seryny, L-cysteiny, L-leucyny, L-izoleucyny, L-argininy, L-tryptofanu lub L-ty-rozyny.

Aminoacylowy rodnik Y pochodzi z jednego lub kilku znanych aminokwasów, na przykład alani-ny, argininy, kwasu asparaginowego, cysteiny, kwasu glutaminowego, glicyny, histydyny, leucy-ny, izoleucyny, lizyny, metioniny, ornityny, fenyl-alaniny, proliny, seryny, treoniny, tryptofanu, tyrozyny i waliny. Rdnik ten składa się z 1-5 aminokwasów konfiguracji L-, takich jak L-ala-nina, kwas L-glutaminowy, glicyna, L-izoleucy-na, L-lizyna i L-fenylalanina. Jest nim na przy-kład L-glutamyl-L-glutamyl-L-alanylo-L-tyrozy-loglicyl, L-alanylo-L-fenylalanilo-L-izoleucylo-glicyl, L-alanylo-L-tyrozyloglicyl lub L-lizylogli-cyl.

Odpowiednią solą acylowanych cztero-peptydów wytwarzanych sposobem według wynalazku jest na przykład sól metalu alkalicznego (sodowa lub potasowa) lub sól amonowa.

Rodniki X-Y oznaczają na przykład N-benzo-iloglicyl, piroglutamyl, N-acetyl, N-benzoil, N α -III rząd. butyloksykarbonylo-N ϵ -benzyloksykar-bonylo-L-lizyl, N ϵ -benzyloksykarbonylo, N ϵ -III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizyl, N-benzyloksykarbonyloglicyl, N-benzyloksykarbonyl, N-III-rząd. butyloksykarbonyloglicyl, glicyl N-benzyloksykarbonylo-L-glutamyl-L-glutamyl-L-alanylo-L-tyrozyloglicyl, N-III rząd. bu-tyloksykarbonyl, N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanyl, N-(L-2-etyloheksanoil)glicyl, N-(D-2-etyloheksanoil)glicyl, N-p-(trófluoroacetyloami-no)benzoil, N-acetylo- β -alanyl, N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotria-zynylo-2)-L-lizyl, N-III-rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-fenylalanilo-L-izoleucyloglicyl, N-benzyloksykarbonylo-L-prolil, N-p-toluenosulfo-nyl, N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzylo-L-

-homocysteiny, N-III rząd. butyloksykarbonylo-N-metylo-L-alanyl, N α -benzyloksykarbonylo-N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizyloglicyl, N-benzyloksykarbonylo-L-walil, N-benzyloksykarbo-nylo-L-fenylalanil, N-benzoil- β -alanyl, N-ace-tylo- γ -aminobutyryl, N-karbamyl, β -alanyl, N α -benzyloksykarbonylo-L-lizyl, N ϵ -benzyloksykar-bonylo-L-lizyl, N α -benzyloksykarbonylo-L-lizylo-glicyl, S-benzylo-L-homocysteiny, N-benzyloksykarbonylo- β -alanyl, N-piwaliloil- β -alanyl, N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanyl i N-III rząd butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicyl.

Szczególnie użytecznymi związkami, wytwarza-nymi sposobem według wynalazku są: amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-fenylalanilo-L-izoleucyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metio-nylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny, oraz amid N-acetylo, N-benzoil-, N-III rząd. butyloksykar-bonylo-L-alanylo-, N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo, N-piwaliloil- β -alanylo, N-benzyloksykarbonylo- β -alanylo, N-acetylo- β -alanylo, N- β -alanylo- i N-karbamyl-L-tryptofanylo-L-metio-nylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny, przy czym szczególnie korzystne właściwości posiada związek pierwszy, drugi, piąty, szósty i ostatni.

Sposób wytwarzania acylowanych cztero-peptydów według wynalazku polega na acylowaniu cztero-peptydu o wzorze 3 lub jego soli pochodną kwasu o wzorze X-Y-OH w którym X i Y mają wyżej podane znaczenie, a grupa kwasowa jest aktywowana, lub chronioną pochodną tego kwa-su, albo pochodną kwasu cyjanowego, po czym ewentualnie odszczepia się grupę ochronną na drodze hydrogenolizy i/lub hydrolizy.

Odmiana sposobu według wynalazku polega na reakcji pochodnej kwasu o wzorze 4, w którym X i Y mają wyżej podane znaczenie, a grupa karboksylowa jest aktywowana, lub chronionej pochodnej tego kwasu, z trójpetydem o wzorze 5 lub jego solą, po czym ewentualnie odszczepia się grupę ochronną na drodze hydrogenolizy i/lub hydrolizy.

Inna odmiana sposobu według wynalazku pole-ga na reakcji pochodnej kwasu o wzorze 6, w którym X i Y mają wyżej podane znaczenie, a grupa karboksylowa jest aktywowana, lub chro-nionej pochodnej tego kwasu z dwupeptydem o wzorze 7 lub jego solą, po czym ewentualnie od-szczepia się grupę ochronną na drodze hydroge-nolizy i/lub hydrolizy.

Jako chronione pochodne kwasów o wzorze X-Y-OH oraz o wzorach 4 i 6, w których X i Y mają wyżej podane znaczenie, stosuje się pochod-ne stosowane zwykle przy wytwarzaniu pepty-dów. Do ochrony grup aminowych stosuje się na przykład grupę benzyloksykarbonylową, p-meto-ksybenzyloksykarbonylową, III rząd. butyloksykar-bonylową lub trófluoroacetylową, a do ochrony grup karboksylowych stosuje się ester metylowy, III rząd. butylowy lub benzylowy. Grupy ochronne odszczepia się ze znanymi sposobami. Odpowiedni-mi pochodnymi powyższych kwasów o aktywowa-nej grupie kwasowej są pochodne utworzone

znanymi sposobami i stosowane przy wytwarzaniu peptydów.

Grupę kwasową aktywuje się na przykład przez wytwarzanie halogenku (na przykład chlorku) kwasowego lub mieszanego bezwodnika drogą reakcji z pochodną kwasu organicznego na przykład z chlorkiem piwałoilu, lub drogą reakcji z pochodną kwasu węglowego, na przykład z chloromrówczanem etylu, bądź drogą reakcji z chlorkiem dwufenylofosforu, przez wytwarzanie estru aktywnego, na przykład estru nitrofenylowego, takiego jak ester p-nitrofenylowy, lub chlorowanego estru fenylowego, na przykład estru 2, 4, 5-trójklorofenylowego, przez wytwarzanie azydku oraz stosowanie jednego lub kilku czynników kondensujących, na przykład N,N'-dwucykloheksylokarbodwuimidu lub N,N'-karbonylo-dwuimidazolu.

Pochodną kwasu z aktywowaną grupą kwasową dobiera się w zależności od rodzaju kwasu. W przypadku gdy grupa kwasowa nie jest związana z asymetrycznym atomem węgla lub jeśli jest ona związana z asymetrycznym atomem węgla aminokwasu, a grupa aminowa tego aminokwasu jest acylowana rodnikiem tlenokarbonylowym i tworzy rodnik o wzorze $-O \cdot CO \cdot NH-$, stosuje się którykolwiek ze wspomnianych wyżej sposobów. Jeżeli natomiast grupa kwasowa jest związana z asymetrycznym atomem węgla aminokwasu, a grupa aminowa tego aminokwasu jest chroniona grupą nie tworzącą rodnika o wzorze $-O \cdot CO \cdot NH-$, korzystnym sposobem jest wytwarzanie azydku.

W przypadku, gdy jako pochodną kwasu stosuje się halogenek kwasowy, taki jak chlorek lub bromek kwasowy, na przykład chlorek benzylksykarbonylu, chlorek acetylu, chlorek benzoilu lub chlorek p-toluenosulfonylu, reakcję prowadzi się dogodnie w środowisku wodnym przy pH 9–10 i w obecności czynnika wiążącego kwas, takiego jak wodorotlenek sodowy lub trójetyloamina. W przypadku gdy stosuje się aktywny ester, na przykład ester p-nitrofenylowy lub 2,4,5-trójklorofenylowy, azydek lub mieszaną bezwodnik, reakcję prowadzi się dogodnie w obecności rozcieńczalnika lub rozpuszczalnika, takiego jak dwumetyloformamid lub aceton, w temperaturze 0–10°C, w obecności zasady, takiej jak trójetyloamina.

W przypadku stosowania wolnego peptydu stosuje się nie więcej niż jeden równoważnik zasady, a w przypadku stosowania soli peptydu, na przykład trójfluoroocetanu, korzystnie stosuje się 1–2 równoważników zasady.

Jeszcze inna odmiana sposobu według wynalazku polega na reakcji amoniaku z estrem o wzorze 8, w którym X i Y mają wyżej podane znaczenie, a R⁶ oznacza rodnik alkilowy lub aralkilowy, lub z chronioną pochodną tego estru, po czym ewentualnie odszczepia się grupę ochronną na drodze hydrogenolizy i/lub hydrolizy. Rodnik R⁶ jako rodnik alkilowy może oznaczać na przykład rodnik metylowy.

Reakcję prowadzi się dogodnie w obecności roz-

cieńczalnika lub rozpuszczalnika, na przykład metanolu, w temperaturze -10°–50°C.

Czteropeptyd stosowany jako związek wyjściowy, wytwarza się w znany sposób przez reakcję β-estru amidu L-asparaginylo-L-feniloalaniny z pochodną L-metioniny, poddanie reakcji wytworzonego β-estru amidu, L-metioninylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny z pochodną L-tryptofanu i zhydrolizowanie produktu tej reakcji.

Trópeptyd, stosowany jako związek wyjściowy, wytwarza się w znany sposób z chronionej pochodnej L-metioniny i amidu L-asparaginylo-L-feniloalaniny, a ten ostatni związek wytwarza się w znany sposób z chronionej pochodnej kwasu asparaginowego i amidu feniloalaniny.

Stosowany jako związek wyjściowy związek o wzorze 4, w którym X i Y mają wyżej podane znaczenie, wytwarza się przez acylowanie L-tryptofanu pochodną kwasu o wzorze $X-Y-OH$, w którym X i Y mają wyżej podane znaczenie, a grupa kwasowa jest aktywowana.

Stosowany jako związek wyjściowy związek o wzorze 6, w którym X i Y mają wyżej podane znaczenie, wytwarza się przez acylowanie estru metylowego L-tryptofanylo-L-metioniny kwasem o wzorze $X-Y-OH$, a następnie przeprowadzenie otrzymanego produktu w kwas lub aktywowaną pochodną tego kwasu.

Stosowany jako związek wyjściowy ester o wzorze 8, w którym X, Y i R⁶ mają wyżej podane znaczenie, wytwarza się na drodze reakcji acylowanej pochodnej L-tryptofanylo-L-metioniny z estrem L-asparaginylo-L-feniloalaniny lub na drodze reakcji acylowanej pochodnej L-tryptofanu z estrem L-metioninylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny.

Jak wspomniano wyżej, związki wytwarzane sposobem według wynalazku są użytecznymi środkami diagnostycznymi i terapeutycznymi, w szczególności są one aktywnymi związkami wpływającymi na wydzielanie żołądkowe i trzustkowe, napięcie mięśniówki żołądka i jelit oraz ich perystaltykę, a także na wydzielanie pepsyny u ssaków, co czyni te związki cennymi środkami diagnostycznymi. Równocześnie mają one zastosowanie w leczeniu wrzodów żołądka lub dwunastnicy i porażennej niedrożności jelit u ludzi.

Związki otrzymane sposobem według wynalazku mogą wchodzić w skład kompozycji farmaceutycznych, zawierających jeden lub kilka acylowanych czteropeptydów wraz z jednym lub kilkoma odpowiednimi nietoksycznymi, farmaceutycznymi rozcieńczalnikami lub nośnikami. Kompozycje te wytwarza się w postaci osłoniętych lub niepowleczonych tabletek, kapsulek, wodnych lub niewodnych roztworów lub zawiesin, emulsji, wodnych lub niewodnych roztworów lub zawiesin do zastrzyków, proszków lub preparatów, przy czym wodne roztwory mogą również zawierać sulfotlenek metylu i/lub chlorek sodowy.

Niżej podane przykłady, w których części oznaczają części wagowe, objaśniają wynalazek nie ograniczając jego zakresu.

Przykład I. Roztwór 178 części trójfluoro-

octanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 185°–190°C w 2000 częściach dwumetyloformamidu, ochładza się do temperatury 0°C i dodaje się 50,5 części trójetylaminy. Mieszaninę tę miesza się dodając 90 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego, po czym przez 48 godzin utrzymuje się temperaturę 0°C. Następnie ustala się wartość pH na 1 przez wkrapianie 2N kwasu solnego, po czym dodaje się kolejno 5000 części mieszaniny wody z lodem i 5000 części eteru. Uzyskaną mieszaninę miesza się przez 15 minut w temperaturze 0°C i odsącza. Po wypłukaniu osadu wodą, a następnie eterem i wysuszeniu w temperaturze 40°–50°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się amid N-benzoyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 237°–238°C (rozkład).

Po przekrystalizowaniu z etanolu produkt wyosabia się w postaci białych włóknistych igiełek.

Stosowany wyżej ester 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego wytwarza się w następujący sposób:

Do 2000 części wrzącego acetonitrylu dodaje się 179 części kwasu hipurowego i 217 części 2,4,5-tróchlorofenolu, po czym, mieszając, szybko ochładza się uzyskaną zawiesinę do temperatury 30°C i dodaje 206 części N, N'-dwucykloheksylokarbodiimidu. Uzyskaną mieszaninę miesza się bez przerwy w ciągu 3 godzin w temperaturze 20°–30°C, a następnie gotuje się ją przez 5 minut, po czym odsącza się mieszaninę, a przesącz ochładza się. Po odsączeniu bezbarwnego produktu i przekrystalizowaniu go z etanolu, otrzymuje się ester 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego o temperaturze topnienia 148°–149°C.

Stosowany jako związek wyjściowy trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 185°–190°C, wytwarza się w znany sposób.

Przykład II. Postępując jak w przykładzie I stosuje się 78 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu L-pirolutaminowego zamiast 90 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego, otrzymując amid L-pirolutaminylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 232°C (rozkład).

Stosowany wyżej ester 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu L-pirolutaminowego wytwarza się jak następuje:

Do mieszanego roztworu 263 części kwasu N-benzoyloksykarbonylo-L-pirolutaminowego i 198 części 2,4,5-tróchlorofenolu w 1000 częściach bezwodnego czterowodorofuranu, o temperaturze 0°–10°C, dodaje się 206 części N, N'-dwucykloheksylokarbodiimidu. Mieszaninę tę utrzymuje się w temperaturze 0°C przez 16 godzin, po czym odsącza się ją, a przesącz odparowuje się pod obniżonym ciśnieniem. Po przekrystalizowaniu osadu z etanolu otrzymuje się ester 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu N-benzoyloksykarbonylo-L-pirolutami-

nowego o temperaturze topnienia 107°–108°C. Roztwór 443 części tego estru w 4000 części czterowodorofuranu miesza się z 50 częściami 5% palladu osadzonego na węglu drzewnym jako katalizatorze i do mieszaniny tej barbotuje się wodór w temperaturze 18°–22°C pod ciśnieniem atmosferycznym, do momentu, w którym ustaje wydzielanie dwutlenku węgla. Po odsączeniu mieszaniny w celu usunięcia katalizatora, odparowaniu przesączu pod obniżonym ciśnieniem i przekrystalizowaniu osadu z metanolu, otrzymuje się ester 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu L-pirolutaminowego o temperaturze topnienia 162°–163°C.

Przykład III. Postępując jak w przykładzie I z zastosowaniem 48 części octanu p-nitrofenylu zamiast 90 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego, otrzymuje się biały stały amid N α -acetylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 245°C–246°C (z burzeniem się).

Przykład IV. Postępując jak w przykładzie I z zastosowaniem 61 części benzoesu p-nitrofenylu zamiast 90 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego, otrzymuje się biały stały amid N α -benzoylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 228°–230°C (z burzeniem się).

Przykład V. Postępując jak w przykładzie I z zastosowaniem 140 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого N α -III rząd. butyloksykarbonylo-N ϵ -benzoyloksykarbonylo-L-lizyny zamiast 90 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego, otrzymuje się biały stały amid N α -III rząd. butyloksykarbonylo-N ϵ -benzoyloksykarbonylo-L-lizylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 207°–208°C (z burzeniem się).

Przykład VI. Postępując jak w przykładzie I z zastosowaniem 140 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого N α -benzoyloksykarbonylo-N ϵ -III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizyny zamiast 90 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego, otrzymuje się biały stały amid N α -benzoyloksykarbonylo-N ϵ -III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 216°–217°C (z burzeniem się).

Przykład VII. Postępując jak w przykładzie I z zastosowaniem 97 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого N-benzoyloksykarbonyloglicyny zamiast 90 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого kwasu hipurowego, otrzymuje się biały stały amid N-benzoyloksykarbonyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny.

Dla $C_{39}H_{45}O_9N_7S$ wyliczono: C-59,3; H-5,75; N-12,5; stwierdzono: C-59,6; H-6,0; N-12,3.

Czystość produktu potwierdza hydroliza małej próbki z 6N kwasem solnym. Badanie na aminokwasowym analizatorze Beckmanna wykazuje zawartość kwasu asparaginowego –1,00; glicyny –1,02; metioniny –0,87; feniloalaniny –1,00.

Przykład VIII. Do roztworu 20 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-

-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 1600 częściach acetonu dodaje się 1250 części wody, po czym ustala się wartość pH mieszaniny na 10,9 przez porcjowe dodawanie 1N wodorotlenku sodowego. Następnie dodaje się 45,5 części chlorku benzylloksykarbonylu i mieszaninę tę miesza się przez 1,5 godziny w temperaturze 18°–25°C, utrzymując wartość pH 10,9 przez porcjowe dodawanie 1N wodorotlenku sodowego z zastosowaniem aparatu do automatycznego miareczkowania. Większość acetonu odparowuje się pod obniżonym ciśnieniem, pozostałość odsącza się, a osad płucze się wodą i miesza z octanem etylu i 2N kwasem solnym. Warstwę octanową wyosabia się, płucze trzykrotnie wodą, suszy nad bezwodnym siarczanem magnezowym i odparowuje. Pozostały osad zawiesza się w eterze, a po odsączeniu otrzymuje się biały stały amid N-benzylloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny. Chromatografia cienkowarstwowa z zastosowaniem żelu krzemionkowego i rozpuszczalnika stanowiącego główną fazę wytworzoną przez zmieszanie 25 części n-butanolu, 6 części kwasu octowego i 25 części wody, wykazuje pojedynczą plamę o R_F 0,93, wyznaczonym przy pomocy reagentu Ehrlicha.

Przykład IX. Roztwór 240 części trójfluorooctanu L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 2500 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C, po czym dodaje się 68,5 części trójetyloaminy. Mieszaninę tę miesza się i dodaje do niej 123 części estru 2,4,5-tróchlorofenylowego N-III rząd. butyloksykarbonyloglicyny. Przez następne 60 godzin utrzymuje się temperaturę 18–22°C, po czym dodaje się 60 000 części octanu etylu i 20 000 części 2N kwasu solnego i miesza się całość przez 5 minut. Warstwę octanową wyosabia się, płucze wodą, suszy nad bezwodnym siarczanem magnezowym i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem. Po zmieszaniu uzyskanego osadu z 5000 częściami octanu etylu i odsączeniu mieszaniny, otrzymuje się bezbarwny bezpostaciowy proszek amidu N-III-rzęd. butyloksykarbonyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny.

Dla $C_{36}H_{47}O_9N_7S$ wyliczono: C-57,3; H-6,3; N-13,0; stwierdzono: C-57,4; H-6,6; N-13,2.

Przykład X. Do 3000 części 75% wodnego roztworu kwasu trójfluorooctowego dodaje się mieszając w temperaturze 15–20°C 100 części amidu N-III rząd. butyloksykarbonyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny i uzyskany roztwór utrzymuje się przez 20 minut w temperaturze 20°–25°C. Nadmiar kwasu trójfluorooctowego odparowuje się pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze poniżej 37°C, osad rozpuszcza się w metanolu, a metanol odparowuje się wtedy pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze poniżej 37°C. Po ponownym rozpuszczeniu w metanolu, usunięciu metanolu w tych samych warunkach, roz mieszanu osadu z eterem i odsączeniu, otrzymuje się bezbarwny bezpostaciowy stały amid glicylo-L-tryp-

tofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny.

Przykład XI. Roztwór 102 części N-benzylloksykarbonylo-(γ -III rząd. butylo)-L-glutamyno-(γ -III rząd. butylo)-L-glutamyno-L-alanylo-L-tyrozyloglicyny w 10 000 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C. Następnie dodaje się, mieszając, kolejno 12,6 części trójetyloaminy i 33,5 części chlorku dwufenylofosforu, a uzyskaną mieszaninę miesza się w temperaturze 0°C przez dalsze 40 minut, po czym dodaje się roztwór 87 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 5000 częściach dwumetyloformamidu. Po dodaniu jeszcze 25,2 części trójetyloaminy miesza się całość przez 18 godzin w temperaturze 18°–22°C, po czym odparowuje się rozpuszczalnik pod obniżonym ciśnieniem, a osad miesza się z octanem etylu. Następnie odsącza się mieszaninę, a stały osad o temperaturze topnienia 220°C (rozkład) płucze się octanem etylu i suszy w temperaturze 40°C pod obniżonym ciśnieniem. 30 części tego produktu dodaje się do 300 części 95% wodnego roztworu kwasu trójfluorooctowego, mieszając całość w temperaturze 15°–20°C. Roztwór ten utrzymuje się w temperaturze 20°–25°C w ciągu 1 godziny, po czym odparowuje się rozpuszczalnik pod obniżonym ciśnieniem. Po wymieszanu osadu z metanolem, odsączeniu mieszaniny i wysuszeniu pozostałości w temperaturze 40°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się bezbarwny stały amid N-benzylloksykarbonylo-L-glutamyno-L-glutamyno-L-alanylo-L-tyrozyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny. Podczas elektroforezy przy wartości pH 6,1 próbka produktu kieruje się ku anodzie.

Przykład XII. Roztwór 3,55 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 30 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C, po czym dodaje się 1,01 części trójetyloaminy i mieszając całość dodaje się 1,84 części estru 2,4,5-tróchlorofenylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo- β alaniny utrzymując temperaturę 0°C jeszcze przez 48 godzin, a temperaturę 20°–23°C przez 24 godziny. Następnie wprowadza się tę mieszaninę do mieszaniny 100 części wody z lodem, 0,37 części stężonego kwasu solnego (d. 1,18), 1,2 części kwasu octowego i 20 części octanu etylu. Mieszaninę tę miesza się w temperaturze 0°C–10°C przez 15 minut, po czym odsącza się ją, a osad płucze się kolejno wodą i octanem etylu. Po wysuszeniu go w temperaturze 40°–50°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 213°C (rozkład).

Stosowany jako związek wyjściowy ester 2,4,5-tróchlorofenylowy N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alaniny o temperaturze topnienia 94°–95°C wytwarza się jak opisano w przykładzie XV przy wytwarzaniu estru 2,4,5-tróchlorofenylowe-

go N-acetylo- β -alaniny lecz stosując 9,5 części N-III rzęd. butyloksykarbonylo- β -alaniny zamiast 6,55 części N-acetylo- β -alaniny.

Przykład XIII. Postępując jak w przykładzie XII, lecz stosując 1,6 części estru p-nitrofenylowego N-(DL-2-etyloheksanoilo) glicyny zamiast 1,84 części estru 2,4,5-trójklorofenyloвого N-III rzęd. butyloksykarbonylo- β -alaniny, otrzymuje się mieszaninę amidu N-(L-2-etyloheksanoilo)- i N-(D-2-etyloheksanoilo)-glicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 228°–230°C (rozkład).

Stosowany jako związek wyjściowy ester p-nitrofenylowy N-(DL-2-etyloheksanoilo) glicyny o temperaturze topnienia 135°–136°C wytwarza się z N-(DL-2-etyloheksanoilo) glicyny, p-nitrofenolu i N,N'-dwucykloheksylokarboduimidu jak opisali Pless i Boissonnas w *Helv. Chim. Acta.*, 46 (1963), str. 160.

Przykład XIV. Postępując jak w przykładzie XII stosuje się 2,06 części estru 2,4,5-trójklorofenyloвого kwasu N-p-(trójfluoroacetyloamino)benzoesowego zamiast 1,84 części estru 2,4,5-trójklorofenyloвого N-III-rzęd. butyloksykarbonylo- β -alaniny, otrzymując amid N-p-(trójfluoroacetyloamino)benzoilo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 229°–231°C (rozkład), który krystalizuje się z wodnego roztworu kwasu octowego.

Stosowany jako związek wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyloвого kwasu N-p(trójfluoroacetyloamino)benzoesowego o temperaturze topnienia 164°–168°C wytwarza się z wolnego kwasu, 2,4,5-trójklorofenolu i N,N'-dwucykloheksylokarboduimidu w octanie etylu, jak opisali Pless i Boissonnas w *Helv. Chim. Acta* 46 (1963), str. 160.

Przykład XV. Roztwór 3,17 części chlorowodoru amidu L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny w 30 częściach dwumetyloformamidu o temperaturze 60°C ochładza się raptownie do temperatury 20°C i dodaje się 1,01 części trójetyluaminy, po czym miesza się całość i ochładza do temperatury 0°C, a następnie dodaje się 1,86 części estru 2,4,5-trójklorofenyloвого N-acetylo- β -alaniny i miesza się całość w temperaturze 0°–5°C w ciągu 24 godzin. Następnie dodaje się 10 części wody i kontynuuje się mieszanie w temperaturze 0°–5°C przez dalsze 24 godziny, po czym dodaje się 30 części wody i mieszaninę tę wprowadza się do mieszaniny 100 części wody z lodem, 0,74 części stężonego kwasu solnego (d. 1,18) i 20 części octanu etylu. Uzyskaną mieszaninę miesza się przez 15 minut w temperaturze 0°–10°C i odsącza. Po wypłukiwaniu osadu kolejno wodą i octanem etylu oraz przekrystalizowaniu go z wodnego roztworu 2-etoksyetanolu, otrzymuje się amid N-acetylo- β -alanyno-L-tryptofanylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 245°C (rozkład).

Stosowany ester 2,4,5-trójklorofenyloвого N-acetylo- β -alaniny wytwarza się jak następuje.

Do mieszanej zawiesiny 6,55 części N-acetylo- β -

-alaniny w 250 częściach acetonitrylu dodaje się roztwór 9,87 części 2,4,5-trójklorofenolu w 100 częściach chlorku metylenu, po czym ochładza się mieszaninę do temperatury 0°C i dodaje roztwór 11 części N,N'-dwucykloheksylokarboduimidu w 100 częściach chlorku metylenu i miesza się mieszaninę reakcyjną w temperaturze 20°–22°C w ciągu 40 godzin i odsącza. Po odparowaniu przesącza i przekrystalizowaniu osadu z mieszaniny octanu etylu z eterem naftowym o temperaturze wrzenia 60°–80°C, otrzymuje się ester 2,4,5-trójklorofenyloвого N-acetylo- β -alaniny o temperaturze topnienia 88°–90°C.

Przykład XVI. Postępując jak w przykładzie XV stosuje się 3,08 estru 2,4,5-trójklorofenyloвого N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazynylo-2)-L-lizyny zamiast 1,86 części estru 2,4,5-trójklorofenyloвого N-acetylo- β -alaniny, otrzymując amid N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazynylo-2)-L-lizyno-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 233°C (rozkład).

Stosowany jako związek wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyloвого N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazynylo-2)-L-lizyny wytwarza się jak następuje.

Do mieszanego roztworu 0,437 części N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazynylo-2)-L-lizyny i 0,217 części 2,4,5-trójklorofenolu w 5 częściach bezwodnego czterowodorofuranu w temperaturze 0°C dodaje się 1,03 części N,N'-dwucykloheksylokarboduimidu i miesza się tę miesza się w temperaturze 0°–2°C przez 18 godzin i odsącza. Po odparowaniu przesącza i przekrystalizowaniu osadu z octanu etylu, otrzymuje się ester 2,4,5-trójklorofenyloвого N α -benzyloksykarbonylo N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazynylo-2)-L-lizyny o temperaturze topnienia 167°–168°C.

Stosowaną powyżej N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazynylo-2)-L-lizynę wytwarza się jak następuje.

Do 10 części szybko mieszanej wody z lodem wkrapla się w ciągu 5 minut roztwór 1,93 części 2-dwumetyloamino-4-6-dwuchlorotriazyny w 15 częściach acetonu, po czym miesza się uzyskaną zawiesinę i ogrzewa do temperatury 30°C, wkrapla roztwór 2,8 części N α -benzyloksykarbonylo-L-lizyny w 10 częściach 1N wodorotlenku sodowego i dalej miesza się całość w temperaturze 30°–35°C w ciągu 15 minut. Podczas wkraplania i później utrzymuje się wartość pH 10–10,5 przez wkraplanie 10 części 1N wodorotlenku sodowego. Następnie odparowuje się większość acetonu pod obniżonym ciśnieniem, a pozostały wodny roztwór zakwasza się kwasem octowym. Po odsączeniu mieszaniny i przekrystalizowaniu osadu z etanolu, otrzymuje się N α -benzyloksykarbonylo-N ϵ -(4-chloro-6-dwumetyloaminotriazynylo-2)-L-lizynę o temperaturze topnienia 161°–162°C.

Przykład XVII. Roztwór 3,55 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny w 50 częściach

dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C i dodaje się 1,01 części trójetyloaminy. Następnie dodaje się 3,43 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-feniloalanylo-L-izoleucyloglicyny i mieszaninę tę miesza się w temperaturze 0–5°C w ciągu 2 dni. Po dodaniu 50 części wody kontynuuje się mieszanie w temperaturze 20–25°C przez dalszy jeden dzień, po czym ogrzewa się mieszaninę do temperatury 50–60°C i odsącza, a osad miesza się z 100 częściami wrzącego octanu etylu i odsącza się gorącą mieszaninę. Uzyskany osad rozpuszcza się w 150 częściach gorącego kwasu octowego, po czym dodaje się 100 części wody i odsącza się mieszaninę wyosabiając kryształy produktu. Po wypłukaniu tych kryształów kolejno 50% roztworem kwasu octowego i octanu etylu oraz wysuszeniu ich w próżni w temperaturze 40–50°C, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-feniloalanylo-L-izoleucyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 248–250°C (rozkład). Cienkowarstwowa chromatografia z zastosowaniem żelu krzemionkowego i rozpuszczalnika tworzącego górną fazę i wytworzonego przez zmieszanie 40 części n-butanolu, 10 części kwasu octowego i 50 części wody, wykazuje pojedynczą plamę o R_F 0,79. Podobna chromatografia z zastosowaniem 75 części izobutanolu i 25 części 3% wodorotlenku amonowego jako rozpuszczalnika, wykazuje pojedynczą plamę o R_F 0,46.

Stosowany jako związek wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-feniloalanylo-L-izoleucyloglicyny, rozkładający się w temperaturze ponad 260°C, wytwarza się z kwasu, 2,4,5-trójklorofenolu i N,N'-dwucykloheksylokarbodwuimidu jak opisali Pless i Boissonnas w *Helv. Chim. Acta* (1963) 46, str. 160.

Przykład XVIII. Roztwór 1,78 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalanylo-L-feniloalaniny w 15 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C i dodaje się doń 0,505 części trójetyloaminy. Następnie dodaje się 0,93 części estru p-nitrofenyłowego N-benzylksykarbonylo-L-proliny i miesza się całość w temperaturze 0°C przez 48 godzin, a w temperaturze 20–22°C przez dalsze 24 godziny. Po dodaniu 70 części wody z lodem ekstrahuje się mieszaninę 20 częściami octanu etylu, który wypłukuje się ponownie wodą, a fazę wodną i płuczki zakwasza się do wartości pH 2 1N kwasem solnym. Po odsączeniu mieszaniny i przekrystalizowaniu osadu z etanolu, otrzymuje się amid N-benzylksykarbonylo-L-prolinylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 238–240°C (rozkład).

Przykład XIX. Do 1000 części wody zawierającej 220 części 1N wodorotlenku sodowego dodaje się 63,3 części chlorowodoru amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny i mieszaninę tę miesza się w temperatu-

rze 20–22°C do osiągnięcia przejrzystego roztworu, po czym dodaje się w ciągu 1 godziny roztwór 10,5 części chlorku p-toluenosulfonylu w 200 częściach acetonu, utrzymując wartość pH 10–11 przez okresowe dodawanie 1N wodorotlenku sodowego. Mieszanie w tych samych warunkach kontynuuje się przez dalsze 2 godziny, a następnie ekstrahuje się mieszaninę eterem, a fazę wodną zakwasza się do wartości pH 2 1N kwasem solnym. Po odsączeniu mieszaniny i wypłukaniu osadu kolejno wodą i octanem etylu, otrzymuje się amid N-p-toluenosulfonylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 233–234°C (rozkład).

Przykład XX. Roztwór 3,55 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny w 30 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C, po czym dodaje się kolejno 1,01 części trójetyloaminy i 2,52 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyllo-L-homocysteiny i miesza się całość w ciągu 4 dni w temperaturze 0–5°C. Następnie wprowadza się tę mieszaninę do mieszaniny 120 części wody z lodem, 0,37 części stężonego kwasu solnego i 1,2 części kwasu octowego i całość miesza się przez 30 minut w temperaturze 0–10°C. Po odsączeniu, wypłukaniu osadu kolejno wodą i eterem oraz przekrystalizowaniu go z etanolu, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyllo-L-homocysteinylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 215–216°C (rozkład).

Stosowany jako związek wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyllo-L-homocysteiny wytwarza się jak następuje.

Do mieszaniny roztworu 3,25 części N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyllo-L-homocysteiny i 1,98 części 2,4,5-trójklorofenolu w 20 częściach octanu etylu w temperaturze 0–10°C dodaje się 2,06 części N,N'-dwucykloheksylokarbodwuimidu i mieszaninę tę miesza się w temperaturze 0°C przez 18 godzin. Po odsączeniu, odparowaniu przesącza pod obniżonym ciśnieniem i przekrystalizowaniu osadu z cykloheksanu, otrzymuje się ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyllo-L-homocysteiny o temperaturze topnienia 111–112°C.

Przykład XXI. Postępując jak w przykładzie XX, stosuje się 1,92 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-N-metylo-L-alaniny zamiast 2,52 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyllo-L-homocysteiny, otrzymując amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-N-metylo-L-alanylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 180–185°C (rozkład).

Wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-III rząd. butyloksykarbonylo-N-metylo-L-alaniny wytwarza się w postaci oleju, jak opisali Pless

i Boissonnas w *Helv. Chim. Acta* 46 (1963), str. 160.

Przykład XXII. Postępując jak w przykładzie XX, stosuje się 3,09 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N- α -benzylloksykarbonylo-N- ϵ -III rzęd. butyloksykarbonylo-L-lizylo-glicyny zamiast 2,52 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-III rzęd. butyloksykarbonylo-S-benzyllo-L-homocysteiny, otrzymując amid N- α -benzylloksykarbonylo N- ϵ -III rzęd. butyloksykarbonylo-L-lizyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 200°–201°C (rozkład).

Wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N- α -benzylloksykarbonylo-N- ϵ -III rzęd. butyloksykarbonylo-L-lizyloglicyny o temperaturze topnienia 126°–127°C wytwarza się, jak pisali Pless i Boissonnas w *Helv. Chim. Acta* 46 (1963), str. 160, z odpowiedniego kwasu o temperaturze topnienia 131°–132°C, który z kolei wytwarza się z odpowiedniego estru metylowego o temperaturze topnienia 91°–92°C, wytworzonego z N- α -benzylloksykarbonylo-N- ϵ -III rzęd. butyloksykarbonylo-L-lizyny i estru metylowego glicyny znaną metodą mieszanego bezwodnika.

Przykład XXIII. Roztwór 1,78 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 15 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C, po czym dodaje się 0,505 części trójetyloaminy i 1,08 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-benzylloksykarbonylo-L-waliny i uzyskaną mieszaninę miesza się przez 2 dni w temperaturze 0°–5°C, a przez następny dzień w temperaturze 20°–22°C. Następnie wprowadza się tę mieszaninę do roztworu 0,37 części stężonego kwasu solnego (d. 1,18) w 50 częściach wody z lodem i całość miesza się przez 30 minut w temperaturze 20°–25°C. Po odsączeniu, wypłukaniu osadu kolejno wodą i eterem oraz przekrystalizowaniu go z wodnego roztworu 2-etoksyetanolu, otrzymuje się amid N-benzylloksykarbonylo-L-walilo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 246°–247°C (rozkład).

Przykład XXIV. Postępując jak w przykładzie XXIII, stosuje się 1,2 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-benzylloksykarbonylo-L-fenylalaniny zamiast 1,08 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-benzylloksykarbonylo-L-waliny, otrzymując amid N-benzylloksykarbonylo-L-fenylalaninylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 241°–243°C (rozkład), który krystalizuje z wodnego roztworu kwasu octowego.

Przykład XXV. Roztwór 3,41 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 20 częściach dwumetyloformamidu zawierającego 1,01 części trójetyloaminy miesza się w temperaturze 0°C z roztworem 1,86 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-benzyllo- β -alaniny w 40 częściach dwumetyloformamidu. Po 60-godzinnym pozostawianiu w temperaturze 0°C ustala się wartość pH mie-

szaniny na 2–3 za pomocą kwasu cytrynowego, po czym rozcieńcza się roztwór 500 częściami wody z lodem i odsącza się go. Po wypłukaniu produktu kolejno wodą i eterem etylowym oraz przekrystalizowaniu z wodnego roztworu 2-metoksyetanolu, otrzymuje się amid N-benzyllo- β -alaninylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 200°–201°C.

Wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-benzyllo- β -alaniny wytwarza się jak następuje.

Do mieszaniny zawiesiny 9,65 części N-benzyllo- β -alaniny w 250 częściach acetonitrylu w temperaturze 0°C dodaje się roztwór 9,87 części 2,4,5-trójklorofenolu w 100 częściach dwuchloru metylenu, a następnie roztwór 11 części N,N'-dwucykloheksylokarbodiimidu w 100 częściach dwuchloru metylenu. Mieszaninę tę miesza się przez 40 godzin w temperaturze otoczenia i odsącza, a pozostałość płucze się dwuchlorkiem metylenu, po czym odparowuje się przesącz i płuczki. Pozostały osad miareczkuje się eterem naftowym o temperaturze wrzenia 60°–80°C i po odsączeniu produktu i przekrystalizowaniu go z mieszaniny octanu etylu z eterem naftowym o temperaturze wrzenia 60°–80°C, otrzymuje się ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-benzyllo- β -alaniny o temperaturze topnienia 120°–122°C.

Przykład XXVI. Postępując jak w przykładzie XXV, stosuje się 1,63 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego kwasu N-acetylo- γ -aminomasłowego zamiast 1,86 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-benzyllo- β -alaniny i przekrystalizowuje produkt z mieszaniny metanolu z octanem etylu, otrzymując amid N-acetylo- γ -aminobutyrylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 217°–218°C.

Wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyłowy kwasu N-acetylo- γ -aminomasłowego wytwarza się jak następuje.

Do mieszaniny zawiesiny 1,45 części kwasu N-acetylo- γ -aminomasłowego w 15 częściach acetonitrylu w temperaturze 0°C dodaje się 1,98 części 2,4,5-trójklorofenolu, po czym dodaje się wstępnie ochłodzony roztwór 2,3 części N,N'-dwucykloheksylokarbodiimidu w 5 częściach acetonitrylu i całość miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu 18 godzin. Następnie odsącza się mieszaninę, osad rozpuszcza się w 30 częściach gorącego metanolu, dodaje się 60 części gorącego octanu etylu i ochładza się roztwór. Po odsączeniu strąconej substancji, odparowaniu przesączu i przekrystalizowaniu osadu z octanu etylu, otrzymuje się ester 2,4,5-trójklorofenyłowy kwasu N-acetylo- γ -aminomasłowego o temperaturze topnienia 122°–124°C.

Przykład XXVII. Do zawiesiny 1,77 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 10 częściach wody i 10 częściach dwumetyloformamidu dodaje się 2,8 części N-metylomorfoliny i mieszaninę tę miesza się przez 30 minut w celu całkowitego rozpuszczenia. Następnie ustala się wartość pH

roztworu na 8 przez dodanie kwasu octowego lodowatego i dodaje się roztwór 1,08 części cyjanianu potasowego w 5 częściach wody. Mieszaninę tę utrzymuje się w temperaturze otoczenia przez 24 godziny, po czym rozcieńcza się ją 100 częściami wody. Po ustaleniu wartości pH mieszaniny na 2–2,5 przez dodanie 2N kwasu solnego, odsączeniu strąconego produktu i przekrystalizowaniu go z wodnego roztworu dwumetyloformamidu, otrzymuje się amid N-karbamyl-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 205°–206°C.

Przykład XXVIII. Do zawiesiny 1,54 części amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-β-alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 10 częściach kwasu octowego dodaje się 2,5 części 3,8 N roztworu chlorowodoru w octanie etylu i mieszaninę tę miesza się w temperaturze 20°–22°C do uzyskania roztworu (około 15 minut) i jeszcze przez około 30 minut. Następnie dodaje się 60 części bezwodnego eteru i odsącza się mieszaninę, a po trzykrotnym wypłukaniu osadu eterem i wysuszeniu w próżni w temperaturze 30°–40°C, otrzymuje się chlorowoderek amidu β-alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 208°C (rozkład).

Przykład XXIX. Do 100 części 80% wodnego roztworu kwasu trójfluorooctowego dodaje się 15 części amidu N α-benzylksykarbonylo-N ε-III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny i mieszaninę tę miesza się przez 45 minut w temperaturze 20°–22°C, po czym dodaje się 600 części bezwodnego eteru. Po odsączeniu mieszaniny, czterokrotnym wypłukaniu osadu bezwodnym eterem i wysuszeniu w temperaturze 20°–25°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się trójfluorooctan amidu N α-benzylksykarbonylo-L-lizylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 198°–200°C (rozkład).

Przykład XXX. Postępując jak w przykładzie XXIX, stosuje się 15 części amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-N-benzylksykarbonylo-L-lizylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny zamiast 15 części izomeru N α-benzylksykarbonylo-N ε-III rząd. butyloksykarbonylowego, otrzymując trójfluorooctan amidu N ε-benzylksykarbonylo-L-lizylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 192°–193°C (rozkład).

Przykład XXXI. Postępując jak w przykładzie XXIX, stosuje się 15 części amidu N α-benzylksykarbonylo-N ε-III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny zamiast 15 części amidu N α-benzylksykarbonylo-N ε-III rząd. butyloksykarbonylo-L-lizylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny, otrzymując biały stały trójfluorooctan amidu N α-benzylksykarbonylo-L-lizyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny. Chromatografia cienkowarstwowa z zastosowaniem że-

lu krzemionkowego i rozpuszczalnika tworzącego górną fazę, wytworzonego przez zmieszanie 25 części n-butanolu, 6 części kwasu octowego i 25 części wody, wykazuje pojedynczą plamę o R_f 0,67.

Przykład XXXII. Do 10 części 80% wodnego roztworu kwasu trójfluorooctowego dodaje się 1 część amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyl-L-homocysteinyl-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny i mieszaninę tę miesza się przez 1 godzinę w temperaturze 20°–22°C, po czym dodaje się 60 części bezwodnego eteru i odsącza się mieszaninę. Po czterokrotnym wypłukaniu osadu bezwodnym eterem i wysuszeniu w temperaturze 20°–25°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się trójfluorooctan amidu S-benzyl-L-homocysteinyl-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny.

Chromatografia cienkowarstwowa z zastosowaniem żelu krzemionkowego i rozpuszczalnika tworzącego górną fazę, wytworzonego przez zmieszanie 25 części n-butanolu, 6 części kwasu octowego i 25 części wody, wykazuje pojedynczą plamę.

Przykład XXXIII. Roztwór 3,17 części chlorowodoru amidu L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 40 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C i dodaje się doń 1,01 części trójetyloaminy. Mieszaninę tę miesza się w temperaturze 0°C dodając 2,21 części estru 2,4,5-trójchlorofenyłowego N-benzylksykarbonylo-β-alaniny, po czym kontynuuje się mieszanie w temperaturze 0°–5°C przez 18 godzin i przez dalsze 24 godziny w temperaturze 20°–22°C po dodaniu 10 części wody. Następnie ogrzewa się mieszaninę w temperaturze 70°–75°C do całkowitego rozpuszczenia (około 2 minut) i uzyskany gorący roztwór wprowadza się do mieszanej mieszaniny 500 części wody z lodem, 10 części 1N kwasu solnego i 200 części cykloheksanu. Po odsączeniu mieszaniny, wypłukaniu osadu kolejno wodą i eterem oraz przekrystalizowaniu go z 2-etoksyetanolu, otrzymuje się amid N-benzylksykarbonylo-β-alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 230°–232°C (rozkład).

Wyjściowy ester 2,4,5-trójchlorofenyłowy N-benzylksykarbonylo-β-alaniny wytwarza się jak ester 2,4,5-trójchlorofenyłowy N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyl-L-homocysteinyl-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny zamiast 3,25 części N-III rząd. butyloksykarbonylo-S-benzyl-L-homocysteinyl-L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny. Otrzymany produkt topi się w temperaturze 94°–95°C.

Przykład XXXIV. Roztwór 3,17 części chlorowodoru amidu L-tryptofanylo-L-metionyl-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 40 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C, po czym dodaje się kolejno 1,01 części trójetyloaminy o 2,02 części estru 2,4,5-trójchlorofenyłowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alaniny. Mieszaninę tę miesza się w temperaturze 0°C przez 48 godzin, a następnie wprowadza

się ją do mieszaniny 300 części wody z lodem, 0,37 części stężonego kwasu solnego (d. 1,18), $\frac{1}{2}$ części kwasu octowego i 100 części cykloheksanu. Przez 15 minut miesza się całość w temperaturze 0°—10°C i odsącza. Po wypłukaniu osadu kolejno wodą i eterem oraz wysuszeniu w temperaturze 40°—50°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-fenyloalaniny o temperaturze topnienia 223°—225°C (rozkład).

Przykład XXXV. Do roztworu 3,55 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenyloalaniny i 2,64 części estru 2,4,5-trójklorofenyłowego N-piwaloil- β -alaniny w 30 częściach dwumetyloformamidu dodaje się 1,01 części trójetyloaminy i uzyskany roztwór utrzymuje się przez dwa dni w temperaturze 20°—22°C, po czym wprowadza się go do mieszaniny 500 części wody z lodem, 0,74 części stężonego kwasu solnego i 300 części cykloheksanu. Po odsączeniu tej mieszaniny, wypłukaniu osadu kolejno wodą i eterem oraz przekrystalizowaniu z wodnego roztworu etanolu, otrzymuje się amid N-piwaloil- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenyloalaniny o temperaturze topnienia 218°—220°C.

Wyjściowy ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-piwaloil- β -alaniny wytwarza się jak następuje.

Do mieszanego roztworu 0,866 części N-piwaloil- β -alaniny i 1,04 części 2,4,5-trójklorofenolu w 20 częściach acetonu w temperaturze 0°—10°C dodaje się 1,03 części N,N'-dwucykloheksylokarbodiimidu i mieszaninę tę miesza się przez 18 godzin w temperaturze 0°—2°C. Po odsączeniu jej, odparowaniu przesącza pod obniżonym ciśnieniem i przekrystalizowaniu pozostałości z eteru izopropylowego, otrzymuje się ester 2,4,5-trójklorofenyłowy N-piwaloil- β -alaniny o temperaturze topnienia 70°—72°C.

Wyjściową N-piwaloil- β -alaninę wytwarza się jak następuje.

Do mieszanego roztworu 3,51 części estru benzylowego p-toluenosulfonianu β -alaniny i 2,02 części trójetyloaminy w 20 częściach chloroformu w temperaturze 0°—4°C dodaje się w ciągu 15 minut 1,23 części chlorku piwaloilu i mieszaninę tę miesza się w temperaturze 20°—22°C przez 2 godziny. Następnie dodaje się 10 części wody, po czym wyosabnia się fazę organiczną, płucze się ją kolejno 10 częściami 1N wodorowęglanu sodowego, 10 częściami wody, 10 częściami 0,5N kwasu solnego i 10 częściami wody, suszy nad bezwodnym siarczanem magnezowym i odparowuje. Po rozpuszczeniu pozostałego oleju w 15 częściach 90% wodnego roztworu kwasu octowego, 4-godzinnym uwodornianiu uzyskanego roztworu w temperaturze pokojowej nad 0,5 części 5% palladu osadzonego na węglu, odsączeniu mieszaniny, odparowaniu przesącza oraz wysuszeniu pozostałości drogą azeotropowej destylacji z benzenem i przekrystalizowaniu produktu z octanu etylu, otrzymuje się N-piwaloil- β -alaninę o temperaturze topnienia 131,5—132°C.

Przykład XXXVI. Mieszaninę 7,11 części

trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenyloalaniny, 2,8 części azyd-ku III rząd. butyloksykarbonylu, 3,03 części trójetyloaminy i 80 części pirydyny miesza się w ciągu 4 dni w temperaturze 23—25°C, po czym odparowuje się ją pod ciśnieniem 0,1 mm, a pozostałość miesza się z 100 częściami wody z lodem. Po zakwaszeniu mieszaniny do wartości pH 3 10% wodnym roztworem kwasu cytrynowego, odsączeniu jej i wypłukaniu osadu wodą oraz przekrystalizowaniu go z wodnego roztworu 2-etoksyetanolu, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenyloalaniny o temperaturze topnienia 209°—210°C (z burzeniem się).

Przykład XXXVII. Roztwór 0,409 części N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicyny i 0,1 części trójetyloaminy w 10 częściach czterowodorofuranu oziębia się do temperatury -20°C, po czym w ciągu 10 minut w temperaturze od -10° do -20°C dodaje się roztwór 0,123 części chlorku piwaloilu w 10 częściach czterowodorofuranu. Uzyskaną mieszaninę miesza się przez 20 minut, po czym dodaje się roztwór 0,71 części trójfluorooctanu amidu L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenyloalaniny i 0,2 części trójetyloaminy w 8 częściach dwumetyloformamidu. Mieszaninę tę utrzymuje się w temperaturze 0°C w ciągu 20 godzin, po czym wprowadza się ją do mieszaniny 50 części wody, 1 części 1N kwasu solnego i 0,12 części kwasu octowego. Po odsączeniu produktu, wypłukaniu go kolejną wodą i wrzącym etanolem oraz odsączeniu, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicyno-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenyloalaniny o temperaturze topnienia 234°C (rozkład).

Wyjściową N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicynę wytwarza się jak następuje.

W 32 częściach metanolu zawiesza się 5,5 części estru metylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicyny i dodaje się 26 części 1N roztworu wodorotlenku sodowego. Uzyskany roztwór miesza się przez 1 godzinę w temperaturze 0°C i odparowuje się go, a osad rozpuszcza się w 40 częściach wody. Po zakwaszeniu tego roztworu 1,3 częściami kwasu cytrynowego i odsączeniu, otrzymuje się N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicynę o temperaturze topnienia 195°—197°C, po spiekaniu w temperaturze 169°—181°C.

Wyjściowy ester metylowy N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicyny o temperaturze topnienia 179°—180°C, wytwarza się w znany sposób.

Przykład XXXVIII. W temperaturze 20°—22°C wstrząsa się przez 3 godziny 1 część amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-asparaginylo-L-fenyloalaniny i 1000 części wody destylowanej zawierającej 2,6 części 1N wodorotlenku amonowego. Do uzyskania roztworu dodaje się 8,8 części chlorku sodowego, po czym sterylizuje się roztwór przez

przesączenie przez sterylny filtr bakterioodporny, otrzymując izotoniczny, sterylny wodny roztwór amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny, zawierający 1 część peptydu w 1000 częściach roztworu. Widmo absorpcyjne w nadfiolecie wykazuje λ min. 246,5 m μ (ϵ 2080), λ odchylenie 272–275 m μ (ϵ 5040) i λ max. 280 m μ (ϵ 5340) i 289 m μ (ϵ 4590).

Przykład XXXIX. W 200 częściach dwumetylosulfotlenku rozpuszcza się 1 część amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny, po czym dodaje się 2 równoważniki 0,1N roztworu wodorotlenku amonowego i uzyskany roztwór rozcieńcza się do 1000 części 0,9% wodnym roztworem chlorku sodowego. Po przesączeniu tego roztworu przez sterylny filtr bakterioodporny otrzymuje się izotoniczny sterylny wodny roztwór amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny.

Postępując jak wyżej, lecz zastępując 1 część amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-tyrozyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny 1 częścią amidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-L-feniloalaninylo-L-izoleucyloglicylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny lub 1 częścią amidu N-acetylo-, N-benzoilo-, N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-alanylo-, N-piwaloiilo- β -alanylo-, N-benzyluksykarbonylo- β -alanylo-, N-acetylo-, β -alanylo-, N- β -alanylo-, lub N-karbamylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny, otrzymuje się odpowiedni izotoniczny sterylny wodny roztwór do zastrzyków.

Przykład XL. Przez 48 godzin w temperaturze 0°C, a następnie przez 24 godziny w temperaturze 20°–25°C miesza się 218 części estru 2,4,5-tróchlorofenyloвого N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanu, 185 części amidu L-metionynu-L-asparaginylo-L-feniloalaniny, 45,6 części trójetiloaminy, 4000 części dwumetyloformamidu i 500 części wody, po czym wartość pH mieszaniny ustala się na 2 przez ostrożne dodawanie 2N kwasu solnego w temperaturze 0°C i dodaje się mieszając 15 000 części wody z lodem. Następnie odsącza się mieszaninę, osad płucze się wodą i gotuje z 8000 częściami etanolu. Po ochłodzeniu i odsączeniu mieszaniny oraz wypłukaniu osadu etanolem i wysuszeniu go w temperaturze 40°–50°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 209–210°C (z burzeniem się).

Wyjściowy amid L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 223°–225°C wytwarza się w znany sposób.

Przykład XLI. Zawiesinę 225 części hydrazidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metioniny w 500 częściach bezwodnego czterowodorofuranu ochładza się do temperatury

–20°C, po czym w temperaturze od –20° do –25°C, szybko mieszając, dodaje się 500 części bezwodnego czterowodorofuranu zawierającego 36,5 części bezwodnego chlorowodoru. Do uzyskanego roztworu dodaje się 61 części azotynu n-butylowego i kontynuuje się mieszanie przez 6 minut w temperaturze od –20°C do –25°C. Uzyskany jasnozielony roztwór wprowadza się do roztworu 140 części amidu L-asparaginylo-L-feniloalaniny w 2000 częściach dwumetyloformamidu, 100 częściach wody i 151,5 częściach trójetiloaminy w temperaturze 0°C. Temperaturę tę utrzymuje się przez 2 dni, po czym dodaje się 10 000 części wody z lodem. Po odsączeniu mieszaniny, wypłukaniu osadu wodą i przekrystalizowaniu go z etanolu, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 209°–210°C (z burzeniem się).

Wyjściowy hydrazyd N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metioniny wytwarza się jak następuje.

Do zawiesiny 200 części chlorowodoru estru metylowego L-metioniny w 1500 częściach chloroformu dodaje się mieszając w temperaturze 0°C 101 części trójetiloaminy. Mieszanie kontynuuje się do momentu całkowitego rozpuszczenia stałej substancji, po czym dodaje się w temperaturze 0°–5°C kolejno 304 części N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanu i 206 części N,N'-dwucykloheksylokarbodwuimidu. Mieszaninę tę utrzymuje się w temperaturze 0°C w ciągu 18 godzin i odsącza się ją, a przesącz płucze się kolejno 200 częściami 10% wodnego roztworu chlorku sodowego, 200 częściami 10% wodnego roztworu kwasu cytrynowego, 200 częściami 10% wodnego roztworu chlorku sodowego, 200 częściami 1N wodorowęgla potasowego i 3 $\times$ 200 częściami 10% wodnego roztworu chlorku sodowego. Następnie suszy się go nad bezwodnym siarczanem magnezowym i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem, a osad rozpuszcza się w 800 częściach eteru izopropylowego i roztwór ten utrzymuje się przez 1 godzinę w temperaturze 0°C. Po odsączeniu i wysuszeniu kryształów w temperaturze 40°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się bezbarwne igiełki estru metylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metioniny o temperaturze topnienia 98°–99°C, którego 225 części rozpuszcza się w 500 częściach metanolu, uzyskany roztwór ochładza się do temperatury 0°C i dodaje się doń 55 części 100% wodzianu hydrazyny. Po 16 godzinnym utrzymywaniu tej mieszaniny w temperaturze 20°–22°C, odsączeniu jej i wypłukaniu osadu metanolem oraz wysuszeniu go w temperaturze 40°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się hydrazyd N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metioniny o temperaturze topnienia 177°–178°C (z burzeniem się).

Amid L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 188°C (z burzeniem się) wytwarza się w znany sposób.

Przykład XLII. Roztwór 360 części hydrazidu N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofany-

lo-L-metioniny w 5200 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury -10°C , po czym dodaje się w tej temperaturze kolejno 2000 części 1N kwasu solnego i 4350 części 0,2N azotynu sodowego. Mieszaninę tę miesza się przez 3 minuty w temperaturze -10°C , po czym dodaje się kolejno 30 000 części wody, 5800 części 1N wodorowęglanu sodowego i 4000 części chlorku metylenu. Dolną warstwę organiczną wyosabia się, a warstwę wodną ekstrahuje się chlorkiem metylenu stosując 4000 części do każdej ekstrakcji. Połączone ekstrakty i fazę organiczną suszy się bezwodnym siarczanem magnezowym przez 5 minut, po czym odsącza się mieszaninę, a przesącz wprowadza się od razu do roztworu 274 części chlorowodoru estru metylowego L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 10 000 częściach dwumetyloformamidu i 262 częściach trójetyloaminy w temperaturze -10°C . Mieszaninę tę utrzymuje się w temperaturze 0°C w ciągu 24 godzin, po czym większość chlorku metylenu usuwa się pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 0°C . Temperaturę tę utrzymuje się przez dalsze 20 godzin, po czym podnosi się ją do $20^{\circ}\text{--}22^{\circ}\text{C}$ na 4 godziny. Następnie dodaje się 40 000 części chlorku metylenu i płucze się roztwór kolejno 20 000 częściami 5% wodnego roztworu kwasu cytrynowego i $2 \times 20\,000$ częściami wody. Po wysuszeniu roztworu nad bezwodnym siarczanem magnezowym, odsączeniu go, odparowaniu przesącza pod obniżonym ciśnieniem i przekrystalizowaniu osadu z wodnego roztworu metanolu, otrzymuje się biały krystaliczny ester N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia $167^{\circ}\text{--}169^{\circ}\text{C}$. Chromatografia cienkowarstwowa z zastosowaniem żelu krzemionkowego oraz rozpuszczalnika zawierającego 100 części II rząd. butanolu i 44 części 3% wodnego roztworu amoniaku, wykazuje pojedynczą plamę o R_f 0,61, a z zastosowaniem żelu krzemionkowego i rozpuszczalnik tworzącego fazę górną i wytworzonego przez zmieszanie 25 części n-butanolu, 6 części kwasu octowego i 25 części wody, wykazuje pojedynczą plamę R_f 0,50.

100 części tego estru metylowego miesza się z 10 000 częściami bezwodnego metanolu nasyconego amoniakiem w ciągu 72 godzin w temperaturze $20^{\circ}\text{--}22^{\circ}\text{C}$, po czym odparowuje się mieszaninę reakcyjną pod obniżonym ciśnieniem, a osad rozpuszcza się w 2000 części metanolu. Następnie wkrapla się 5% wodny roztwór kwasu cytrynowego mieszając całość w temperaturze $15^{\circ}\text{--}20^{\circ}\text{C}$, do momentu uzyskania wartości pH 2–3. Po odsączeniu, wypłukaniu osadu wodą i wysuszeniu w temperaturze 40°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia $209^{\circ}\text{--}210^{\circ}\text{C}$ (z burzeniem się).

Wyjściowy chlorowodorek estru metylowego L-asparaginylo-L-fenylalaniny wytwarza się jak następuje.

Do roztworu 465 części kwasu N-benzylksy-

karbonylo-(β -benzylo)-L-asparaginowego i 280 części chlorowodoru estru metylowego L-fenylalaniny w 1200 częściach chlorku metylenu dodaje się kolejno 132 części trójetyloaminy i 294 części N,N'-dwucykloheksylokarbodwuimidu, utrzymując temperaturę 0°C . Mieszaninę tę miesza się w tej temperaturze przez 1 godzinę, a przez następne 16 godzin w temperaturze $20^{\circ}\text{--}22^{\circ}\text{C}$. Następnie odsącza się ją, a przesącz płucze się kolejno 500 częściami 1N kwasu solnego, 500 częściami wody, 500 częściami 1N wodorowęglanu sodowego i 500 częściami wody, po czym suszy się go nad bezwodnym siarczanem magnezowym i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem. Po przekrystalizowaniu osadu z mieszaniny octanu etylu z eterem naftowym o temperaturze wrzenia $60^{\circ}\text{--}80^{\circ}\text{C}$, otrzymuje się ester metylowy N-benzylksykarbonylo-(β -benzylo)-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia $115^{\circ}\text{--}116^{\circ}\text{C}$. Mieszaninę 312 części tego estru, 4000 części metanolu i 300 części 2N kwasu solnego miesza się z 50 częściami 10% palladu osadzonego na węglu drzewnym, po czym przez 3 godziny barbotuje się wodór w temperaturze $18^{\circ}\text{--}22^{\circ}\text{C}$ pod ciśnieniem atmosferycznym. Po odsączeniu mieszaniny w celu usunięcia katalizatora, odparowaniu przesącza pod obniżonym ciśnieniem i wysuszeniu osadu w temperaturze 40°C pod obniżonym ciśnieniem, otrzymuje się chlorowodorek estru metylowego L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia $105^{\circ}\text{--}110^{\circ}\text{C}$.

Przykład XLIII. Roztwór 1,96 części estru metylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 50 częściach bezwodnego metanolu, nasyconego amoniakiem, utrzymuje się w temperaturze $0^{\circ}\text{--}2^{\circ}\text{C}$ w ciągu 24 godzin, po czym odparowuje się go pod obniżonym ciśnieniem. Osad rozpuszcza się w 40 częściach metanolu i dodaje się 0,2 części kwasu octowego. Po odsączeniu i wypłukaniu osadu metanolem, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia $229^{\circ}\text{--}230^{\circ}\text{C}$ (rozkład).

Wyjściowy ester metylowy N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny wytwarza się jak następuje.

Roztwór 9,6 części estru 2,4,5-trójklorofenylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alaniny 15,18 części chlorowodoru estru metylowego L-tryptofanylo-L-metionyno-L-asparaginylo-L-fenylalaniny w 50 częściach dwumetyloformamidu ochładza się do temperatury 0°C , po czym dodaje się kolejno 10 części wody i 1,62 części trójetyloaminy. Mieszaninę tę miesza się w temperaturze $0^{\circ}\text{--}2^{\circ}\text{C}$ przez 3 dni i wprowadza się ją następnie do mieszaniny 200 części wody z lodem, 1,6 części kwasu cytrynowego, 1 części kwasu octowego i 80 części eteru. Po odsączeniu mieszaniny, trzykrotnym wypłukaniu osadu wodą i trzykrotnym wypłukaniu eterem oraz przekrystalizowaniu z etanolem, otrzymuje się ester metylowy N-III rząd.

butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 171°–172°C (rozkład).

Chlorowodorek estru metylowego L-tryptofanylo-L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny wytwarza się jak następuje.

Do roztworu 7,12 części estru metylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny w 100 częściach kwasu octowego dodaje się 100 części 3,45 N kwasu solnego w octanie etylu w temperaturze 15°–20°C. Roztwór ten utrzymuje się w temperaturze 20°–22°C, w ciągu 3 godzin, po czym dodaje się 1000 części bezwodnego eteru i odsącza się mieszaninę. Po pięciokrotnym wypłukaniu osadu eterem i wysuszeniu w próżni w temperaturze 25°C, otrzymuje się chlorowodorek estru metylowego L-tryptofanylo-L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 180°–181°C (rozkład).

Przykład XLIV. Do 20 części bezwodnego czterowodorofuranu zawierającego 0,73 części bezwodnego chlorowodoru dodaje się w temperaturze –20°C, szybko mieszając, 3,89 części hydrazidu N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanu, po czym dodaje się 1,22 części azotynu n-butyloвого i kontynuuje się mieszanie w temperaturze od –20° do –25°C przez 6 minut. Następnie wprowadza się tę mieszaninę do roztworu 4,47 części chlorowodoru amidu L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny w 50 częściach dwumetyloformamidu, 25 częściach wody i 4,24 częściach trójetyloaminy w temperaturze 0°C. Przez 3 dni miesza się całość w temperaturze 0°C, po czym zakwasza się mieszaninę do wartości pH 3,5 5% wodnym roztworem kwasu cytrynowego i uzyskany roztwór wprowadza się do mieszaniny 500 części wody z lodem i 300 części eteru, po czym odsącza się mieszaninę. Po wypłukaniu osadu wodą i przekrystalizowaniu go z wodnego roztworu 2-etoksyetanolu, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 229°–230°C (rozkład).

Wyjściowy hydrazyd N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanu wytwarza się jak następuje.

Do roztworu 38,9 części estru metylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanu w 400 częściach metanolu w temperaturze 15°–20°C dodaje się 10,7 części 100% wodzianu hydrazyny i mieszaninę tę utrzymuje się w temperaturze 20°–23°C przez 2 dni a następnie odparowuje pod obniżonym ciśnieniem. Po wypłukaniu osadu octanem etylu i przekrystalizowaniu go z etanolu, otrzymuje się hydrazyd N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanu o temperaturze topnienia 198°–199°C (rozkład).

Ester metylowy N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanu wytwarza się jak następuje:

Do roztworu 3,78 części N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alaniny i estru metylowego L-tryp-

tofanu (świeżo wytworzonego z 6,43 części chlorowodoru estru metylowego L-tryptofanu) w 80 częściach bezwodnego acetonu dodaje się w temperaturze 0°C 4,12 części N,N'-dwucykloheksylokarbodwumidu, po czym miesza się całość przez 48 godzin w temperaturze 0°–5°C i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem. Osad ekstrahuje się 200 częściami wrzącego octanu etylu, po czym ochładza się ekstrakt do temperatury 20°C i odsącza. Przesącz płucze się kolejno 0,5N kwasem solnym, wodą, wodnym roztworem 1N wodorowęglanu sodowego i wodą oraz suszy bezwodnym siarczynem magnezowym i odparowuje. Po przekrystalizowaniu osadu z octanu etylu, otrzymuje się ester metylowy N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanu o temperaturze topnienia 157°–158°C.

Chlorowodorek amidu L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny wytwarza się z odpowiedniej wolnej zasady w znany sposób.

Przykład XLV. Do szybko mieszanego roztworu 0,73 części bezwodnego chlorowodoru w 20 częściach bezwodnego czterowodorofuranu dodaje się w temperaturze –20°C 5,21 części hydrazidu N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metioniny, po czym dodaje się 1,22 części azotynu n-butyloвого i przez 6 minut kontynuuje się mieszanie w temperaturze od –20° do –25°C. Następnie wprowadza się tę mieszaninę do roztworu 3,06 części amidu L-asparaginylo-L-feniloalaniny w mieszaninie 40 części dwumetyloformamidu, 2 części wody i 4,24 części trójetyloaminy w temperaturze 0°C. Temperaturę tę utrzymuje się przez 3 dni, po czym zakwasza się mieszaninę do wartości pH 3,5 5% wodnym roztworem kwasu cytrynowego. Roztwór ten wprowadza się do 400 części wody z lodem i całość odsącza się. Po wypłukaniu osadu wodą i przekrystalizowaniu go z wodnego roztworu 2-etoksyetanolu, otrzymuje się amid N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metionynylo-L-asparaginylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 229°–230°C (rozkład).

Wyjściowy hydrazyd N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metioniny wytwarza się jak następuje.

Do roztworu 19,72 części estru metylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metioniny w 200 częściach metanolu w temperaturze 15°–20°C dodaje się 4,05 części 100% wodzianu hydrazyny i mieszaninę tę utrzymuje się w temperaturze 20°–23°C przez 36 godzin, a następnie odparowuje się ją pod obniżonym ciśnieniem aż usunięte zostanie 100 części metanolu. Po odsączeniu i przekrystalizowaniu osadu z etanolu, otrzymuje się hydrazyd N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metioniny o temperaturze topnienia 218°–219°C (rozkład).

Ester metylowy N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -alanylo-L-tryptofanylo-L-metioniny wytwarza się jak następuje.

Do roztworu 1,84 części estru 2,4,5-trójklorofenylowego N-III rząd. butyloksykarbonylo- β -ala-

niny i 1,92 części chlorowodoru estru metylo-
wego L-tryptofanylo-L-metioniny w 20 częściach
dwumetyloformamidu dodaje się 0,505 części trój-
etyloaminy w temperaturze 0°C. Roztwór ten
utrzymuje się w temperaturze 0°–5°C w ciągu
48 godzin, po czym wprowadza się go do miesza-
niny 100 części wody z lodem, 0,06 części kwasu
octowego i 80 części octanu etylu. Warstwę octa-
nową wyosabia się z mieszaniny i łączy z ek-
straktem warstwy wodnej z 80 częściami octanu
etylu. Mieszaninę tę płucze się kolejno 50% roz-
tworem kwasu cytrynowego, wodą, 1N wodnym
roztworem wodorowęglanu sodowego i wodą, po
czym suszy się ją bezwodnym siarczanem mag-
nezowym i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem.
Po przekrystalizowaniu osadu z mieszaniny octa-
nu etylu z cykloheksanem otrzymuje się ester
metylowy N-III rzęd. butyloksykarbonylo-β-ala-
nylo-L-tryptofanylo-L-metioniny o temperaturze
topnienia 138°–139°C.

Chlorowodorek estru metyloвого L-tryptofany-
lo-L-metioniny wytwarza się jak następuje.

Do roztworu 8,99 części estru metyloвого N-III
rzęd. butyloksykarbonylo-L-tryptofanylo-L-metio-
niny w 16 częściach octanu etylu dodaje się 40
części 3,45N kwasu chlorowodorowego w octanie
etylu w temperaturze 15°–20°C. Roztwór ten
utrzymuje się w temperaturze 20°–22°C w ciągu
2 godzin, po czym dodaje się 400 części bezwod-
nego eteru. Po odsączeniu mieszaniny i cztero-
krotnym wypłukaniu osadu bezwodnym eterem,
otrzymuje się chlorowodorek estru metyloвого
L-tryptofanylo-L-metioniny o temperaturze top-
nienia 100°–105°C (rozkład).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania acylowanych pochodnych
czteropeptydów o wzorze 1, w którym X
oznacza ewentualnie podstawiony rodnik acy-
lowy, a Y oznacza bezpośrednie wiązanie po-
między rodnikiem X a sąsiednim atomem
azotu, lub rodnik aminoacylowy o wzorze 2,
w którym R¹, R², R³, R⁴ i R⁵, takie same lub
różne, oznaczają atomy wodoru lub ewentu-
alnie podstawione rodniki alkilowe, A¹, A²,
A³, A⁴ i A⁵ oznaczają atomy wodoru lub A¹
i R¹, A² i R², A³ i R³, A⁴ i R⁴ i/lub A⁵ i R⁵
są połączone i tworzą pierścień heterocyklicz-
ny wraz z sąsiednimi atomami azotu i węgla,
a n¹, n², n³, n⁴ i n⁵, takie same lub różne,
oznaczają liczby 0 lub 1, oraz soli tych zwią-
zków, **znamienny tym**, że czteropeptyd o wzo-
rze 3 lub jego sól, acyluje się za pomocą po-
chodnej kwasu o wzorze X–Y–OH, w którym
X i Y mają wyżej podane znaczenie, a gru-
pa kwasowa jest aktywowana, lub za pomocą
chronionej pochodnej tego kwasu, a następ-
nie odszczepia się ewentualnie grupę ochron-
ną na drodze hydrogenolizy i/lub hydrolizy.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że
jako pochodną kwasu o wzorze X–Y–OH sto-
suje się pochodną kwasu cyjanowego.
3. Odmiana sposobu według zastrz. 1, **znamien-
na tym**, że acyluje się pochodną kwasu o

wzorce 4, w którym X i Y mają wyżej poda-
ne znaczenie, a grupa karboksylowa jest ak-
tywowana, lub acyluje się chronioną pochod-
ną tego kwasu za pomocą amidu trójpepty-
du o wzorze 5 lub jego soli, a następnie od-
szczepia się ewentualnie grupę ochronną na
drodze hydrogenolizy i/lub hydrolizy.

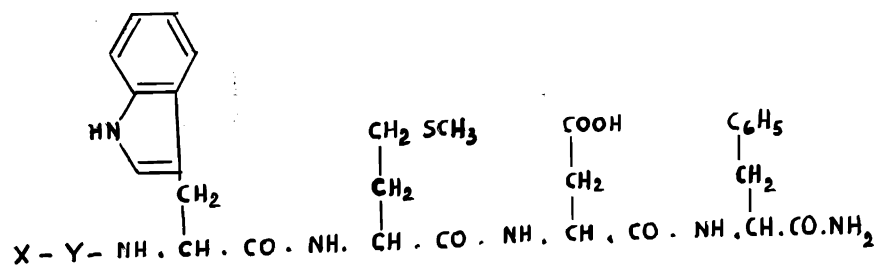
4. Odmiana sposobu według zastrz. 1, **znamien-
na tym**, że pochodną kwasu o wzorze 6, w
którym X i Y mają znaczenie podane w za-
strz. 1, a grupa karboksylowa jest aktywowa-
na, lub chronioną pochodną tego kwasu pod-
daje się reakcji dwupeptydem o wzorze 7 lub
jego solą, a następnie odszczepia się ewen-
tualnie grupę ochronną na drodze hydrogeno-
lizy i/lub hydrolizy.
5. Sposób według zastrz. 1–3, **znamienny tym**,
że jako chronioną pochodną kwasu stosuje się
pochodną, w której grupa aminowa jest chro-
niona rodnikiem benzyloksykarbonylowym, p-
metoksybenzyloksykarbonylowym, III rzęd.
butyloksykarbonylowym lub trójfluoroacety-
lowym, a grupa karboksylowa jest chroniona
rodnikiem metylowym, III rzęd. butylowym
lub resztą estru benzyloвого.
6. Sposób według zastrz. 1–3, **znamienny tym**,
że grupę karboksylową kwasu aktywuje się
przez wytworzenie halogenku kwasowego lub
mieszanego bezwodnika drogą reakcji z kwa-
sem organicznym, z pochodną kwasu węgło-
wego lub z chlorkiem dwufenylofosforu, przez
wytworzenie aktywnego estru, przez wytwor-
zenie azydku lub przez zastosowanie jedne-
go lub kilku czynników kondensujących.
7. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że
jako aktywny ester stosuje się ester 2,4,5-
trójchlorofenyloвого lub ester p-nitrofenylo-
wy.
8. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że
jako czynnik kondensujący stosuje się N,N'-
dwucykloheksylokarbodwuimid lub N,N'-kar-
bonylo-dwuimidazol.
9. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że
w przypadku gdy jako aktywowaną pochod-
ną kwasu stosuje się halogenek kwasowy, re-
akcję prowadzi się w środowisku wodnym,
przy wartości pH = 9–10 i w obecności czyn-
nika wiążącego kwas.
10. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że
w przypadku gdy jako aktywowaną pochod-
ną stosuje się aktywny ester, azydek lub mie-
szany bezwodnik, reakcję prowadzi się w
środowisku rozcieńczalnika lub rozpuszczalni-
ka w temperaturze 0–10°C w obecności zasady.
11. Odmiana sposobu według zastrz. 1, **znamien-
na tym**, że ester o wzorze 8, w którym X i

Y mają znaczenie wyżej podane, a R^6 oznacza rodnik alkilowy lub aralkilowy, lub jego chronioną pochodną, poddaje się reakcji z amoniakiem, a następnie odszczepia się ewentualnie grupę ochronną na drodze hydrogenolizy i/lub hydrolizy.

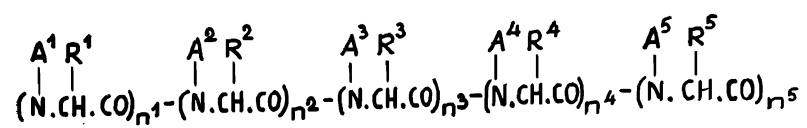
12. Sposób według zastrz. 11, **znamienny tym**, że

reakcji z amoniakiem poddaje się ester o wzorze 8, w którym R^6 oznacza rodnik metylowy.

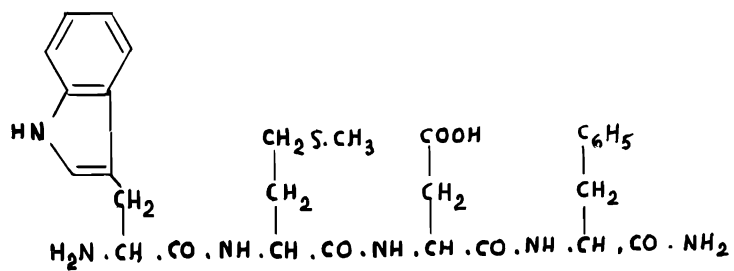
13. Sposób według zastrz. 11 i 12, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w środowisku rozcieńczalnika lub rozpuszczalnika w temperaturze od -10° do 50°C .



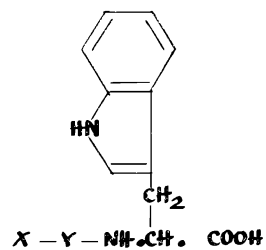
WZÓR 1



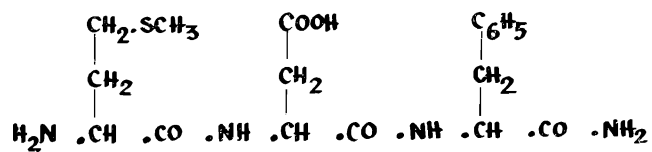
WZÓR 2



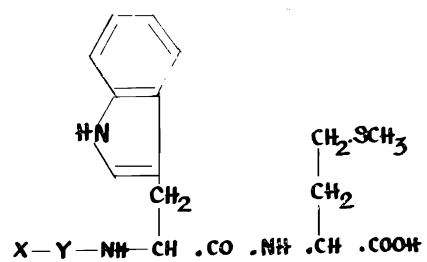
WZÓR 3



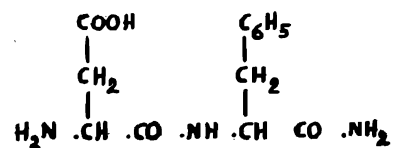
WZÓR 4



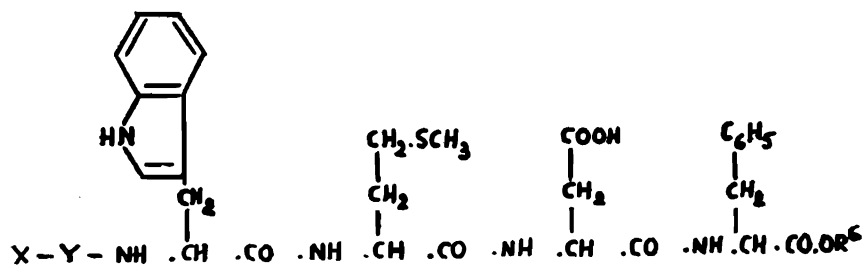
WZÓR 5



WZÓR 6



wzór 7



wzór 8